

Aydın İli'nde pamuk alanlarından elde edilen *Verticillium dahliae* Kleb. izolatlarının vejetatif uyum grupları

Havva DİNLER¹

Seher BENLİOĞLU²

SUMMARY

Vegetative compatibility groups (VCGs) of *Verticillium dahliae* Kleb. isolates obtained from the cotton growing areas of Aydın province

The project aimed at collecting *Verticillium dahliae* (Vd) isolates from cotton, assessing their Vegetative Compatibility Group (VCG)'s diversity. Between 2004 and 2005, a total of 47 Vd isolates were collected from main cotton growing areas of twelve towns in Aydın province, and tested for pathogenicity on cotton (cv. Acala SJ2) plants in growth chamber. The virulence of Vd isolates ranged from 3.83% to 100% while the rate of defoliated leaves changed from 0.0-100%. Twenty-four isolates of Vd was tested for vegetative compatibility using nitrate-nonutilizing (*nit*) mutants. The frequency of *nit1/nit3* mutants was 98.4% while *NitM* mutants was 1.6%. Two VCGs were found and identified as VCG2A (1 isolate) and VCG2B (23 isolates) by using international reference strains. However, four isolates belonging to VCG2B also showed weak heterokaryon formation with tester strain of VCG1.

Key words: Cotton, Vegetative Compatibility Groups, *Verticillium dahliae*

ÖZET

Bu çalışma, Aydın ilinde pamuk ekim alanlarından elde edilen *Verticillium dahliae* (Vd) izolatlarının vejetatif uyum gruplarını (VCG) belirlemek amacıyla ele alınmıştır. 2004 ve 2005 yıllarında Aydın ilinde pamuk ekim alanı açısından önemli 12 ilçede pamuk bitkilerinden 47 *Verticillium* spp. izolatu elde edilmiş ve Acala SJ2 çeşidi pamuk bitkilerinde iklim odasında patojenisite testleri yapılmıştır. Vd izolatların virülensi %3.83-100 arasında değişirken, pamuk bitkilerindeki yaprak döküm oranlarının ise %0.0-100.0 arasında değiştiği belirlenmiştir. Pamuktan elde edilen 24 *V. dahliae* izolatının nitrattan yararlanmayan mutantları (*nit*) elde edilerek bu izolatların vejetatif uyum grupları saptanmıştır. Pamuktan elde edilen *nit1/nit3* mutantlarının bulunma sıklığı %98.4, *NitM* mutantların bulunma oranı ise %1.6 olarak belirlenmiştir. Uluslararası test strainleri

¹ Uşak Üniversitesi, Sivaslı Meslek Yüksek Okulu, 64800, Uşak

² Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 09100, Aydın
Sorumlu Yazar (Corresponding author) e-mail: havva.dinler@usak.edu.tr
Yazının Yayın Kuruluna Geliş Tarihi (Received): 13.03.2012

kullanılarak yapılan değerlendirmeler sonunda pamuktan elde edilen 23 izolatın VCG2B, 1 izolatın ise VCG2A olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte VCG2B olduğu saptanan 4 izolatın VCG1 test straini ile zayıf heterokaryon oluşturduğu dikkati çekmiştir.

Anahtar kelimeler: Pamuk, Vejetatif uyum grupları (VCGs), *Verticillium dahliae*

GİRİŞ

Türkiye'de pamuk, genelde Ege, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde yetiştirilmektedir. Ege Bölgesi hem 212.000ha ekim alanı ve hem de kütlü pamuk üretimi açısından ikinci sırada yer almaktadır. Aydın İli, 2004 yılında Ege bölgesinde pamuk ekim alanı açısından birinci (65.916ha) sırada yer almaktadır (Anonim 2006).

Türkiye'de pamuk tarımını etkileyen faktörlerden biri de *Verticillium dahliae* Kleb.'nin neden olduğu Verticillium Solgunluğu hastalığıdır. Yapılan çalışmalarda, bu hastalığın Türkiye'nin bütün pamuk ekim alanlarında yaygın olduğu ve önemli ürün kayıplarına neden olduğu tespit edilmiştir (Esentepe 1979, Karaca et al. 1971, Sağır ve Tatlı 1995).

V. dahliae'nin geniş bir konukçu dizisine sahip olması ve görünüşte konukçuya özelleşmesinin az olması nedeniyle genetik farklılığın az olduğu belirtilmiştir. Ancak son zamanlarda yapılan vejetatif uyum ve moleküler çalışmalar, *V. dahliae*'deki genetik farklılığın önemli olduğunu göstermektedir. Vejetatif uyum, hisel anastomosis'e maruz kalan fungal ırkların heterokaryon oluşturma yeteneğini ifade etmektedir. Bu heterokaryonu oluşturan izolatlar aynı vejetatif uyum grubunda yer almaktadır (Korolev et al. 2000 a). Ülkemizde yapılan bir çalışmada Ceyhan'dan elde edilen *V. dahliae* pamuk izolatlarının %40'ı VCG2B, %40'ı VCG2A; Karataş'tan elde edilen pamuk izolatlarının %66.7'si VCG2B, %33.3'ü VCG2A; Kozan'dan elde edilen pamuk izolatların %37.5'i VCG2B, %12.5'i VCG2A, %12.5'i VCG4B, %12.5'i VCG4A; Yüreğir'den elde edilen pamuk izolatlarının %57.14'ü VCG2A, %28.77'si VCG2B, %14.29'u VCG4B; Osmaniye'den elde edilen pamuk izolatlarının %66.7'si VCG2B, %33.3'ü VCG2A; Hatay'dan elde edilen pamuk izolatlarının %58.82'si VCG2B, %23.53'ü VCG2A ve %2.94'ü VCG4B ve Kahramanmaraş'dan elde edilen pamuk izolatlarının ise %100'ü VCG2B olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada Ege Bölgesi'nde İzmir (Güzelköy)'den elde edilen 2 pamuk izolatının da VCG2B olduğu ve bu nedenle Kahramanmaraş, Hatay, Osmaniye ve Mersin illerindeki *V. dahliae* populasyonu genetik benzerlik gösterdiği belirtilmiştir (Derviş ve Bıçıcı 2003). Kurt ve Bıçıcı (1997)'e atfen Derviş ve Bıçıcı (2003), mikrosklerot morfolojileri, *invitro*'da optimum miseliyal gelişme sıcaklıkları ve pamuk bitkilerinde patojenisite durumları açısından T-1 (yaprak dökken) ve SS-4 (yaprak dökmeyen) izolatı olarak ayrılmış *V. dahliae* pamuk biyotiplerinin, vejetatif uyum gruplarının araştırıldığını belirtmektedir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, Ege Bölgesi'nde pamuk üretimi yapılan 57 farklı bölgeden toplam 101 *V. dahliae* izolatı elde edilmiştir. Bu izolatların nit mutantları arasındaki heterokaryon

oluşumlarına göre vejetatif uyum grupları test edilmiştir. Testlenen 46 izolat VCG1, 12 izolat VCG2A, 33 izolat VCG2B ve 4 izolat VCG4B olarak belirlenmiştir. Alınan tüm izolatlardan kök-enjeksiyon yöntemi ile Acala SJ-1 ve Deltapine 15-21 pamuk çeşitlerinde patojenisite testleri yapılmıştır. Orjinlerine bakılmaksızın VCG 2 ve 4B izolatlardan pamukta zayıf belirtiler oluşturmuş ve daha önce pamukta tanımlanan yaprak dökme patotiple benzer bulunmuştur. Bunun aksine, VCG 1'in tüm pamuk izolatlardan şiddetli yaprak belirtileri, gelişme geriliği, yaprak dökümü ve sık ölümlere neden olmuştur (Göre 2007).

Yunanistan'ın merkez ve güneyindeki hastalıklı pamuk, domates ve karpuz bitkilerinden elde edilen *V. dahliae* izolatlardaki farklılıkları değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada, pamuktan elde edilen 28 *V. dahliae* izolatından 20'si VCG2B, 3'ü VCG2A ve VCG2B ile kuvvetli reaksiyon göstermiştir. 5 izolat ise kendine uyumsuz olarak bulunmuştur. Bu çalışma, Yunanistan'da pamuk alanlarındaki *V. dahliae* popülasyonunun genel olarak homojen olduğunu göstermiştir (Elena 2000). İspanya'nın güneyindeki pamuk alanlarından izole edilen 57 *V. dahliae* pamuk izolatının 26'sı VCG1, 25'i VCG2A ve 5'i VCG4B olarak değerlendirilmiştir. Bir izolatta kendine uyumsuz olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada İsrail'den alınan 178 *V. dahliae* pamuk izolatının ise 114'ü VCG2B, 63'ü VCG4B ve 1'i VCG2A olarak belirlenmiştir (Korolev et al. 2000 a). 1992 ve 1997 yılları arasında İsrail'de 47 yerdeki toprak ve 3 konukçu bitki türünden elde edilen 565 *V. dahliae* izolatının vejetatif uyum gruplarının belirlendiği çalışmada 3 VCG grubu bulunmuş ve 28 izolat VCG2A, 158 izolat VCG2B ve 378 izolat ise VCG4B olarak tanımlanmıştır. Bir heterokaryon izolat ise kendine uyumsuz bulunmuştur. VCG2B izolatlardan %92'si İsrail'in kuzey bölümünden ve VCG4B izolatlardan %90'ı ise güneyden elde edilmiştir (Korolev et al. 2000b).

V. dahliae'nin konukçusu olan ana ürünlerdeki VCG'ler ve alt gruplarının bilinmesi, izolatlardan içindeki genetik benzerliklerin veya farklılıkların anlaşılmasında önemli yararlar sağlayacak ve ıslahçılara da katkı sağlayacaktır. Bu nedenle çalışma Ege Bölgesi'nin önemli pamuk üretim potansiyeline sahip olan Aydın ilindeki pamuk alanlarından elde edilen *V. dahliae* izolatlardan vejetatif uyum gruplarını (VCG) saptamak amacıyla ele alınmıştır.

MATERYAL VE METOT

2004 ve 2005 yıllarında Aydın İli'ne bağlı Merkez, Yenipazar, Koçarlı, Germencik, Söke, Nazilli, Kuyucak, Buharkent, İncirliova, Çine, Köşk, Karpuzlu ilçelerindeki pamuk ekim alanlarından elde edilen hastalıklı bitki örnekleri, bu örneklerden elde edilen *V. dahliae* izolatlardan, patojenisite testleri için kullanılan pamuk bitkileri (cv. Acala SJ 2) çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Ayrıca VCG gruplarının belirlenmesi için Dr. N. Korolev ve Dr. Tsror (Lahkim) (İsrail)' dan temin edilen referans izolatlardan [VCG1 (cot 200-5) nit1, VCG2A (pt 72) nit1, VCG2B (cot 274) nit1, VCG4B (tom 53) nit1, VCG1 (cot 201) Nit M, VCG2A (Ep-8) Nit M, VCG2B (cot 11) Nit M, VCG4B (Pn- 4) Nit M] kullanılmıştır.

Hastalıklı bitki örneklerinin toplanması, izolasyon ve tanılama çalışmaları

Aydın İli'nde pamuk ekim alanı açısından önemli olan 12 ilçeden (Merkez, Yenipazar, Koçarlı, Germencik, Söke, Nazilli, Kuyucak, Buharkent, İncirliova, Çine, Köşk, Karpuzlu) 2004 ve 2005 yıllarında hastalıklı bitki örnekleri alınmıştır. Bu amaçla 27/9-1.10.2004 ve 28/09-5.10.2005 tarihleri arasında toplam 48 tarlaya gidilmiş ve *Verticillium* solgunluğu belirtisi gösteren pamuklardan sap örnekleri alınmıştır. Laboratuara getirilen pamuk sap örneklerinin hastalık belirtisi gösteren kısımlarından sağlıklı dokuları da içerecek şekilde küçük parçalar alınarak, bu parçalar yüzey dezenfeksiyonu için % 2'lik sodyum hipoklorid (NaOCl) çözeltisinde 2 dakika bekletilmiştir. Daha sonra steril saf su ile durulanıp, steril kurutma kağıtları ile kurulanmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu yapılan bu hastalıklı kısımlar, litresine 100 ppm streptomycinsülfat ilave edilmiş Su Agar-SA (%1.6 agar, 11 damıtık su) ortamına ekilerek inkubasyon için 24°C'deki inkubatörde bırakılmıştır. 48-72 saatlik inkubasyon sonrası petri ler mikroskop altında incelemeye alınmıştır. *Verticillat* dallanma gösteren alanlardan steril bir öze yardımıyla alınan kültür, içerisinde Patates Dextroze Agar-PDA (200g patates, 20g. dextroze, 18g agar, 11 damıtık su) bulunan petrilere aktarılmıştır. İzolasyon sonrası petri ler 24°C'deki inkubatöre konmuş ve 14 günlük bir inkubasyon sonrası izolatlar, içerisinde PDA bulunan tüplere aktarılmıştır. Tüpler aynı sıcaklıkta inkubasyona bırakılmış, gelişen etmen daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere +4°C'deki buzdolabına kaldırılmıştır. İzole edilen *Verticillium* spp. izolatlarının mikroskopik özellikleri göz önüne alınarak Melouk (1992)'de belirtilen morfolojik kriterlere göre tanılaması yapıldıktan sonra tek spor izolasyonu yapılmıştır. İzolatlar %20'lik gliserolde -80°C'de saklanmıştır.

Patojenisite çalışmaları

V. dahliae izolatlarının patojenisite çalışmaları Acala SJ-2 pamuk çeşidinde yapılmıştır (Korolev et al. 2000b). Bu amaçla pamuk fideleri, içerisinde 1/3 kum, 1/3 toprak, 1/3 torf bulunan saksılarda, 24 ±2 °C'de 16 saat aydınlık/8 saat karanlık koşullarındaki iklim odasında geliştirilmiştir. Patojenisite çalışmalarında 5-6 yapraklı pamuk bitkileri ile *V. dahliae*'e ait izolatların PDA'daki 14 günlük kültürleri kullanılmıştır. *V. dahliae* izolatlarının spor süspansiyonunun hemacytometrede spor sayımı yapılmıştır. İnokulum, 4x10⁶ spor/ml olacak şekilde ayarlanmış ve 4x10⁶ spor/ml'lik spor süspansiyonu, mikropipetle her bir bitkiye 10 µl olacak şekilde damlatılmış ve 22 gauge'luk enjektör yardımı ile bitkilere inokule edilmiştir. Kontrol amacıyla pamuk bitkilerine yine aynı yöntemle steril saf su inokule edilmiştir (Hanson 2000). İnokulasyonu takiben bitkiler iklim odasında 24 ±2°C'de 16 saat aydınlık/8 saat karanlık periyodunda inkubasyona bırakılmıştır. Patojenisite çalışmaları, her izolat için 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 2 bitki olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre yürütülmüştür. İnokulasyondan 5 hafta sonra hastalık şiddetleri, Al-Ahmad and Mosli (1993)'nin 0-5 skalası her bitkideki hastalıklı yaprak alanları esas alınarak değerlendirilmiştir.

0-5 Skalası

İndeks	belirti	% hastalık
0	sağlam,	
1	1-2 yaprakta solgunluk	(%10)
2	bitkinin 1/4'ünde solgunluk,	(%25)
3	bitkinin yarısında solgunluk,	(%50)
4	bitkinin 3/4'ünde solgunluk,	(%75)
5	ölü,	(%100)

Tüm istatistiki analizler SPSS paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamalar Duncan testi ile 0.05 önem seviyesinde karşılaştırılmıştır.

Nit mutantların elde edilmesi ve karakterizasyonu

Pamuktan elde edilen *V.dahliae* tek spor izolatlarının Czapek Dox Agar (CDA, Sucrose 30.0g/L; NaNO₃ 3.0g/L; MgSO₄ 0.5g/L; KCl 0.5g/L; Fe₂(SO₄)₃ 0.01g/L; K₂HPO₄ 1.0g/L; Agar 13.0g/L)'da geliştirilen kültürlerinden alınan 2mm çapındaki miseliyal diskleri içerisinde Su Agar Klorat [(WAC: %0.02 glucose, %2 agar ve %3 potasyum klorat (KClO₃)] bulunan petrilere ekilmiştir. WAC'deki *V.dahliae* izolatları 24 °C'de 28 gün inkubasyona bırakılmıştır. 28. günün sonunda her bir koloninin kenarından alınan misel CDA'ya aktarılmış ve aynı sıcaklıkta 5 gün gelişmeye bırakılmıştır. CDA'da ince, yaygın ve havai olmayan gelişme gösteren koloniler nit mutant olarak değerlendirilmiştir.

Nit mutantların fenotipik ayırımı için her izolata ait miseliyal diskler (4 mm çapında), CDA'ya, CDA+ 0.2g/l hypoxantine'e ve CDA+ sodium nitrite (0.5g/l)'e inokule edilmiştir. Kültürler 27°C'de 5 gün inkubasyona bırakılmıştır. CDA+ 0.2g/l hypoxantine'de wild tip gibi bol, CDA'da ince gelişen mutantlar nit1, hem CDA+ sodium nitrite'te hem de CDA'da ince gelişen mutantlar nit3 olarak belirtilmiştir. Ayrıca hem CDA hem de CDA+ hypoxantine'de ince gelişen miselyuma sahip koloniler NitM olarak isimlendirilmiştir (Korolev et al. 2000b, Tsrör (Lahkim) and Levin 2003).

Vejetatif uyum gruplarının saptanması

Fenotipik olarak farklı nit mutantlar arasındaki heterokaryosis, CDA besi ortamında 2 tekerrürlü olarak yapılmıştır. 9 cm çapında ve içerisinde CDA bulunan petrilere altlarından 1-1.5cm uzaklıkta üçgen oluşturacak şekilde işaretlenmiştir. Elde edilen nit mutantlar işaretli noktalara ekilmiş ve 24°C'de 28 gün inkubasyona bırakılmıştır. 2 mutanta ait miselyumun karşılaştığı yerde yoğun havai miselyum gelişimi (prototrophic gelişim) varsa bu heterokaryosisi yani komplementasyonu göstermektedir. Bu şekildeki heterokaryosis ile 2 farklı izolatın mutantlarının aynı VCG grubuna ait olduğuna karar verilir (Korolev et al. 2000b, Tsrör (Lahkim) and Levin 2003).

Tüm izolatların heterokaryosis çalışmaları tamamlandıktan sonra aynı VCG grubunda olduğu belirlenen bazı izolatlar ile Dr. Korolev ve Dr. Tsrör (Lahkim)'den sağlanan tester izolatlar arasında heterokaryosis testleri yapılmış ve

VCG grupları belirlenmiştir. Değerlendirme; kombinasyonlar arasında tam bir heterokaryosis zonu oluşumu "+", hiç zon oluşmaması "-", hem geç oluşan hemde ince, kabarık olmayan zayıf bir zon oluşumu "+/-" şeklinde gösterilerek yapılmıştır (Korolev et al. 2000b).

SONUÇLAR

İzolasyon ve patojenisite çalışmaları

Aydın İli'nde 2004 ve 2005 yıllarında pamuk ekim alanı açısından önemli olan 12 ilçede (Merkez, Yenipazar, Koçarlı, Germencik, Söke, Nazilli, Kuyucak, Buharkent, İncirliova, Çine, Köşk, Karpuzlu) toplam 48 tarlaya gidilmiş ve *Verticillium Solgunluğu* belirtisi gösteren pamuklardan sap örnekleri alınmıştır. Hastalıklı bitkilerin alındığı tarlalardaki belirti tipleri ve elde edilen izolatlar aşağıda verilmiştir (Çizelge 1 ve 2).

Çizelge 1. 2004 yılı *Verticillium dahliae* izolatlarının belirti tipleri, pamuktaki (%) hastalık şiddetleri ve (%) yaprak dökümü

İzolat no	İzolatin elde edildiği ilçe	Pamuk tarlasındaki belirti tipi	Hast.şiddeti ort. (%)*	Yaprak dökümü ort. (%)*
18/4	İncirliova	YD	93.37 A	77.49 ABC
19/3	Koçarlı	YD, DM	89.99 AB	86.66 A
12/3	Köşk	YD	88.95 ABC	82.59 AB
20/2	Koçarlı	YD	84.26 ABCD	72.22 ABC
5/3	Nazilli	YD	73.55 ABCDE	60.37 ABCDE
22/2	Germencik	YD	72.31 ABCDE	54.61 ABCDE
17/3	İncirliova	YD, DM	65.20 ABCDEF	62.03 ABCD
16/3	Karpuzlu	DM	64.33 ABCDEF	59.12 ABCDE
24/2	Söke	YD	64.28 ABCDEF	48.42 BCDEF
13/1	Çine	DM	62.57 ABCDEF	26.72 EFGH
4/3	Yenipazar	YD	57.33 ABCDEF	45.83 CDEFG
14/1	Çine	DM	55.16 BCDEFG	9.70 H
23/1	Söke	DM	52.66 CDEFG	14.51 GH
15/2	Karpuzlu	DM	49.55 DEFG	9.88 H
3/1	Yenipazar	DM	42.42 EFGH	18.51 FGH
11/1	Köşk	YD	39.72 EFGHI	29.16 DEFGH
8/2	Kuyucak	DM, YD	34.15 FGHI	5.55 H
10/1	Buharkent	DM, YD	28.83 FGHI	12.50 GH
1/2	Merkez	DM	28.10 FGHI	8.33 H
9/1	Buharkent	DM, YD	19.58 GHI	4.17 H
6/1	Nazilli	YD	19.01 GHI	0.00 H
2/1	Merkez	YD	12.54 HI	7.41 H
7/2	Kuyucak	DM, YD	3.83 H	4.17 H

(*) Aynı sütun içinde aynı harfle gösterilen rakamlar arasında istatistiki açıdan fark yoktur. Duncan testi ($p<0.05$). YD: yaprak dökme, DM: yaprak dökme

2004 yılında hastalıklı bitki örneklerinin alındığı pamuk tarlalarının %30.4' ünde bitkiler yaprağını dökmezken, %43.5' i yaprağını büyük ölçüde dökmeindedir. *Verticillium solgunluğu* belirtisi gösteren tarlaların %26.1' inde ise hem yaprağını dökmeyen hem de dökken bitkilere rastlanmıştır (Çizelge 1). 2005 yılında, hastalıklı bitki örneklerinin alındığı pamuk tarlalarının da %29.2' sinde bitkiler yaprağını dökmezken, %62.5' i yaprağını dökmeindedir. *Verticillium solgunluğu* belirtisi gösteren tarlaların %8.3' ünde ise hem yaprağını dökmeyen hem de dökken bitkilere rastlanmıştır (Çizelge 2). Her iki yılda 12 ilçede 48 tarladan 47 *V. dahliae* izolatu elde edilmiştir.

Çizelge 2. 2005 yılı *Verticillium dahliae* izolatlarının belirti tipleri, pamuktaki (%) hastalık şiddetleri ve (%) yaprak dökümü

İzolat no	İzolatu elde edildiği ilçe	Pamuk tarlasındaki belirti tipi	Hast. şiddeti ort. (%)*	Yaprak dökümü ort. (%)*
16/1	Nazilli	YD	100.00 A	100.00 A
7/2	Koçarlı	YD	91.33 AB	61.35 ABCD
24/2	Karpuzlu	YD	90.50 ABC	82.50 AB
21/1	Çine	YD	89.08 ABC	33.33 CDE
5/3	İncirliova	YD	88.77 ABC	86.11 AB
18/3	Yenipazar	YD	86.67 ABC	66.67 ABC
4/2	Germencik	YD	84.50 ABCD	67.80 ABC
2/1	Söke	YD	82.50 ABCD	73.97 AB
8/2	Koçarlı	YD	81.33 ABCD	60.37 BCD
3/3	Germencik	YD	76.96 ABCDE	69.73 ABC
15/1	Nazilli	DM	75.00 ABCDE	26.11 DE
19/1	Köşk	DM, YD	74.75 ABCDE	25.00 DE
14/1	Kuyucak	YD	73.52 ABCDE	16.67 E
10/3	Merkez	DM	66.00 ABCDEF	32.50 CDE
20/2	Köşk	DM	65.54 BCDEF	10.00 E
22/2	Çine	YD	65.37 BCDEF	11.67 E
23/3	Karpuzlu	YD	57.33 BCDEFG	3.33 E
9/1	Merkez	DM	56.77 CDEFG	18.89 E
17/3	Yenipazar	DM, YD	50.91 DEFG	3.33 E
13/3	Kuyucak	YD	47.12 EFG	4.17 E
11/2	Buharkent	DM	39.16 FG	3.33 E
6/2	İncirliova	YD	37.17 FG	23.60 DE
1/1	Söke	DM	29.73 G	7.15 E
12/1	Buharkent	DM	29.50 G	0.00 E

(*) Aynı sütun içinde aynı harfle gösterilen rakamlar arasında istatistikî açıdan fark yoktur, Duncan testi ($p < 0.05$). YD: yaprak dökken, DM: yaprak dökmeyen

2004 yılı *V. dahliae* pamuk izolatları incelendiğinde, 17/3 ve 18/4 (İncirliova), 19/3 ve 20/2 (Koçarlı), 12/3 (Köşk), 5/3 (Nazilli), 22/2 (Germencik), 16/3 (Karpuzlu), 24/2 (Söke), 13/1 (Çine), 4/3 (Yenipazar) no'lu izolatların virülensinin yüksek olduğu ve bu izolatların istatistikî olarak aynı grupta yer aldığı, 7/2 ve 8/2

(Kuyucak), 1/2 ve 2/1 (Merkez), 6/1 (Nazilli), 9/1 ve 10/1 (Buharkent), 11/1 (Köşk), 3/1 (Yenipazar) izolatlarının ise virülensinin düşük olduğu ve bu izolatların da diğer grupta yer aldığı görülmektedir. 14/1 (Çine), 23/1 (Söke), 15/2 (Karpuzlu) izolatları ise ayrı bir grup oluşturmuştur. Pamuk bitkileri yüzde yaprak dökümü açısından değerlendirildiğinde ise, 19/3 ve 20/2 (Koçarlı), 12/3 (Köşk), 17/3 ve 18/4 (İncirliova), 5/3 (Nazilli), 16/3 (Karpuzlu) ve 22/2 (Germencik) izolatlarının yaprak dökürme yüzdelerinin %54.61-86.66 arasında değiştiği ve bu izolatların istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı saptanmıştır. Bu da bize virülensi yüksek olan *V. dahliae* izolatlarının yaprak dökürme yüzdelerinin de yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca yaprak dökürme yüzdeleri yüksek olan izolatların, pamuk tarlasındaki hastalıklı bitkilerin belirti tipi (yaprak dökken ve yaprak dökmeyen) değerlendirmesiyle paralellik gösterdiği de görülmektedir. 6/1 (Nazilli), 9/1 ve 10/1 (Buharkent), 7/2 ve 8/2 (Kuyucak), 2/1 ve 1/2 (Merkez), 13/1 ve 14/1 (Çine), 15/2 (Karpuzlu), 23/1 (Söke), 3/1 (Yenipazar) ve 11/1 (Köşk) izolatlarının ise pamukta yaprak dökürme yüzdeleri %0.00-29.16 arasında değişmiş ve bu izolatlar istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır. Ancak yaprak dökürme yüzdeleri düşük olan izolatlar, bu izolatların alındığı pamuk tarlasındaki hastalıklı bitkilerin belirti tipi ile karşılaştırıldığında farklılıklar saptanmıştır.

Aydın İli'nde 2005 yılında pamuk ekim alanlarından elde edilen *V. dahliae* izolatlarının pamuktaki yüzde hastalık şiddetlerinin %29.5-100.00 arasında değiştiği ancak 16/1 ve 15/1 (Nazilli), 7/2 ve 8/2 (Koçarlı), 24/2 (Karpuzlu), 21/1 (Çine), 5/3 (İncirliova), 18/3 (Yenipazar), 4/2 ve 3/3 (Germencik), 2/1 (Söke), 19/1 (Köşk) ve 14/1 (Kuyucak) ve 10/3 (Merkez) izolatlarının virülensinin yüksek (ortalama hastalık şiddeti %66.00-100.00) olduğu belirlenmiştir. 12/1 ve 11/2 (Buharkent), 1/1 (Söke), 6/2 (İncirliova), 13/3 (Kuyucak), 17/3 (Yenipazar), 9/1 (Merkez) ve 23/3 (Karpuzlu) izolatların ise virülensinin düşük olduğu ve bu izolatların istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı saptanmıştır. Sonuçlar pamuk bitkisindeki yüzde yaprak dökümü açısından değerlendirildiğinde de, virülensi yüksek olan izolatların, yaprak dökürme yüzdelerinin de genellikle yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2). Bu izolatların pamuktaki yüzde yaprak döküm değerleri %66.67-100.00 arasında değişmiş ve sonuçlar pamuk tarlasındaki belirti tipi gözlemleriyle de örtüşmüştür.

Vejetatif uyum grubu çalışmaları

47 *V.dahliae* izolatının 10 tanesinden nit mutant edilememiş, 8 izolattan ise klorate'a dayanıklı koloni elde edilemediği için nit mutant değerlendirmesine alınamamıştır. Bu nedenle çalışmalarda 24 *V. dahliae* izolatından toplam 64 nit mutant elde edilmiştir. Bu mutantların 63'ü (%98.44) nit1 iken 1'i (%1.56) NitM fenotipinde yer almıştır. Çalışma sonunda nit 3 fenotipine rastlanmamıştır (Çizelge 3, 4).

Çizelge 3. 2004 yılında pamuktan elde edilen *V. dahliae* izolatlarının fenotipik ayrımı

İlçe	İzolot no	Klorate'a dayanıklı ¹	Değ. alınan mutant sayısı ² (5 diskten)	nit1	nit3	NitM
Merkez	1/2	10	3	3	-	-
	2/1	10	1	-	-	1
Yenipazar	3/1	10	3	3	-	-
	4/3*					
Nazilli	5/3	10	Mutant yok.			
	6/1	10	4	4	-	-
Kuyucak	7/2	10	1	1	-	-
	8/2	10	4	4	-	-
Buharkent	9/1	10	5	5	-	-
	10/1	10	Mutant yok.			
Köşk	11/1	8	4	4	-	-
	12/3	10	1	1	-	-
Çine	13/1	10	1	1	-	-
	14/1*					
Karpuzlu	15/2	10	2	2	-	-
	16/3	10	4	4	-	-
İncirliova	17/3	10	Mutant yok.			
	18/4	8	Mutant yok.			
Koçarlı	19/3*					
	20/2	10	Mutant yok.			
Germencik	22/2*					
Söke	23/1	10	Mutant yok.			
	24/2*					
TOPLAM		176	33	32	-	1

¹WAC'e 10 adet *V. dahliae* diski ekildi. Klorate' dayanıklı olanlardan ince gelişen 5 disk CDA'a aktarıldı.

²CDA'a ekilen 5 diskten ince gelişenler mutant olarak değerlendirildi.

* Kontaminasyon nedeniyle izolat elden çıkmıştır.

Çizelge 4. 2005 yılında pamuktan elde edilen *V. dahliae* izolatlarının fenotipik ayrımı

İlçe	İzolat no	Klorate'a dayanıklı ¹	Değ.alınan mutant sayısı ² (5 diskten)	nit1	nit 3	Nit M
Söke	1/1	10	1	1	-	-
	2/1	-				
Germencik	3/3	10	1	1	-	-
	4/2	10	1	1	-	-
İncirliova	5/3	10	Mutant yok.			
	6/2	10	4	4	-	-
Koçarlı	7/2	-				
	8/2	-				
Merkez	9/1	9	4	4	-	-
	10/3	10	Mutant yok.			
Buharkent	11/2	9	3	3	-	-
	12/1	9	3	3	-	-
Kuyucak	13/3	9	Mutant yok.			
	14/1	-				
Nazilli	15/1	9	5	5	-	-
	16/1	-				
Yenipazar	17/3	-				
	18/3	-				
Köşk	19/1	10	4	4	-	-
	20/2	9	2	2	-	-
Çine	21/1	10	1	1	-	-
	22/2	-				
Karpuzlu	23/3	10	Mutant yok.			
	24/2	5	2	2	-	-
TOPLAM		149	31	31	-	-

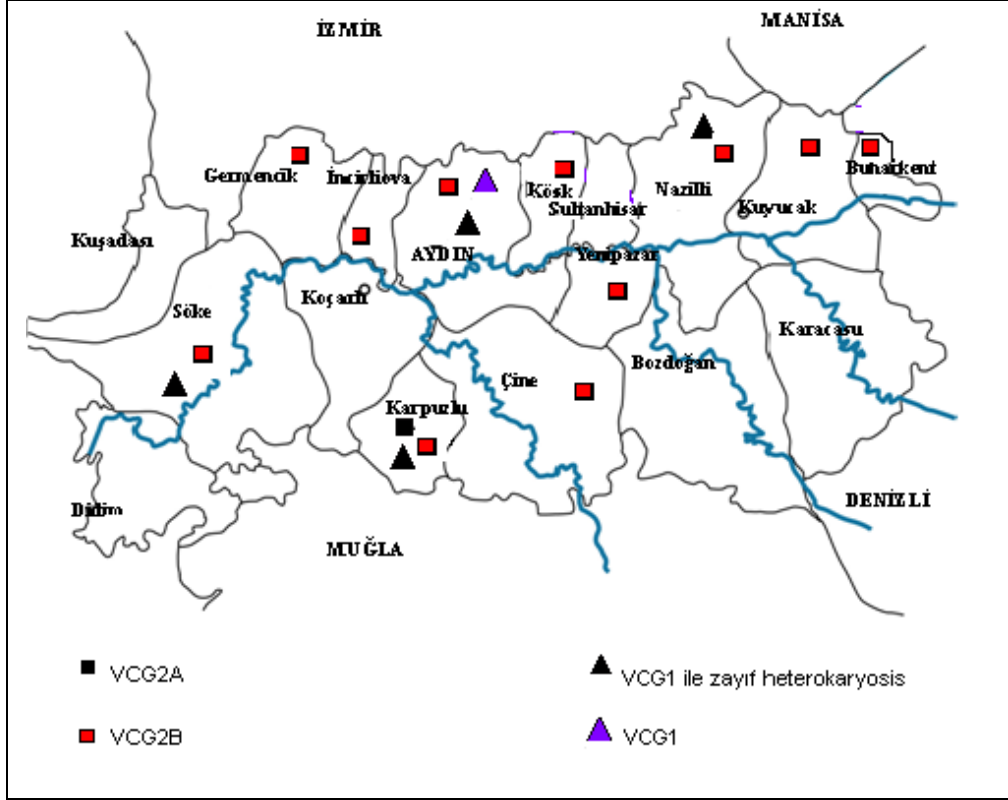
¹WAC'e 10 adet *V. dahliae* diski ekildi. Klorate dayanıklı olanlardan ince gelişen 5 disk CDA'ya aktarıldı.

²CDA'ya ekilen 5 diskten ince gelişenler mutant olarak değerlendirildi.

Heterokaryosis testleri sonucunda *V. dahliae* izolatlarının %91.7'si VCG2B, %4.2'si VCG1 ve %4.2'si VCG2A olarak bulunmuştur. VCG2B olduğu belirlenen *V. dahliae* izolatlarının %18.2'si VCG1 ile zayıf uyum göstermiştir. Ayrıca VCG2A sadece Karpuzlu ilçesine ait bir izolatta görülürken, VCG1 izolatu da Merkez ilçede saptanmıştır. Nazilli, Merkez, Karpuzlu ve Söke ilçelerinde de 4 *V. dahliae* izolatının VCG1 ile zayıf uyum gösterdiği tespit edilmiştir. *V. dahliae* izolatının hiçbirisi VCG4B ile eşleşmemiştir (Çizelge 5, Şekil 1).

Çizelge 5. Aydın İli'nde 2004-2005 yıllarında pamuklardan izole edilen *Verticillium dahliae* tek spor izolatlarına ait mutantlar ile tester izolatlar arasında yapılan heterokaryosis testleri

İlçe	İzolat no	Tester izolatların grupları, isimleri ve fenotipleri			
		VCG1 cot 201 (Nit M)	VCG2A Ep-8 (Nit M)	VCG2B cot 11 (Nit M)	VCG4B Pn-4 (Nit M)
Merkez	1/2	-	-	+	-
	2/1	+/-	-	+	-
	9/1	+	-	+/-	-
Yenipazar	3/1	-	-	+	-
İncirliova	6/2	-	-	+	-
Germencik	3/3	-	-	+	-
	4/2	-	-	+	-
Nazilli	6/1	-	-	+	-
	15/1	+/-	-	+	-
Kuyucak	7/2	-	-	+	-
	8/2	-	-	+	-
Buharkent	9/1	-	-	+	-
	11/2	-	-	+	-
	12/1	-	-	+	-
Köşk	11/1	-	-	+	-
	12/3	-	-	+	-
	19/1	-	-	+	-
	20/2	-	-	+	-
Çine	13/1	-	-	+	-
	21/1	-	-	+	-
Karpuzlu	15/2	-	-	+	-
	16/3	+/-	-	+	-
	24/2	-	+	-	-
Söke	1/1	+/-	-	+	-



Şekil 1. Aydın İli'nde 2004-2005 yıllarında pamuklardan elde edilen *Verticillium dahliae* izolatlarının VCG'lerinin ilçelere göre dağılımı.

TARTIŞMA VE KANI

Aydın İli'nde 2004 ve 2005 yıllarında pamuk ekim alanı açısından önemli 12 ilçede 48 tarladan 47 *V. dahliae* izolatı elde edilmiştir. Bu izolatların patojenisite çalışmalarında hastalık şiddetlerinin %3.83-100 arasında değiştiği ve 25 *V. dahliae* izolatı (%53.2)'nin virülensinin yüksek, 5 (%10.6)'inin orta ve 17 (%36.2)'sinin düşük olduğu bulunmuştur (Çizelge 1 ve 2). *V. dahliae* izolatları yaprak dökümü açısından değerlendirildiğinde virülensi düşük olan izolatların hepsinin pamuktaki yaprak dökürme yüzdelерinin düşük (%0.0-29.16), virülensi yüksek izolatların ise büyük kısmının yüksek (%59.12-100) olduğu görülmektedir. Onan and Karcılıoğlu (1998) ise, Ege Bölgesi'nde Pamuk Solgunluk Hastalığı etmeni *V. dahliae*'nin patotiplerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada 85 izolat kullanmış ve yapılan inokulasyon çalışmalarında 10^7 spor/ml'lik inokulumun Deltapine pamuk çeşidinde yaprak dökmeksizin ölüme neden olduğunu, Acala pamuk çeşidinde ise hafif simptom oluşturduğunu bildirmiştir. 47 *V. dahliae* izolatının 10 tanesinden nit mutant edilememiş, 8 izolattan ise klorate'a dayanıklı koloni elde edilemediği için nit mutant değerlendirmesine alınamamıştır. Bu nedenle çalışmalarda 24 *V. dahliae*

izolatından toplam 64 nit mutant elde edilmiştir. Bu mutantların 63'ü (%98.44) nit1 iken 1'i (%1.56) NitM fenotipinde yer almıştır. Çalışmalar sonunda nit 3 fenotipine rastlanmamıştır (Çizelge 3,4). Nitekim Derviş ve Biçici (2003), pamuk, patlıcan, karpuz, banya ve zeytinden elde edilen 89 *V. dahliae* izolatının fenotipini belirlemiş ve bu izolatlardan 70 tanesinin nit1 (%78.65), 2 tanesinin nit3 (%2.24) ve 17 tanesinin Nit M fenotipinde (%19.1) olduğunu belirtmiştir.

Derviş ve Biçici (2005) tarafından Akdeniz Bölgesinde pamuktan elde edilen *V. dahliae* izolatları ile yapılan vejetatif uyum çalışmalarında VCG2A, VCG2B ve VCG4B gibi sadece yaprak dökmeyen patotipler elde edilmesine rağmen, Göre (2007) Ege Bölgesinde pamuk alanlarından elde edilen 101 *V. dahliae* izolatının 46'sının VCG1, 12'sinin VCG2A, 33'ünün VCG2B, 4'ünün VCG4B olduğunu belirtmektedir. Elena (2000), Yunanistan'da hastalıklı pamuk bitkilerinden elde edilen 28 *V. dahliae* izolatından 20'sinin VCG2B, 3'ünün VCG2A ve VCG2B ile kuvvetli reaksiyon gösterdiğini belirtmiştir. 5 izolat ise kendine uyumsuz olarak bulunmuştur.

Yapılan benzer çalışmalarda da İspanya'dan alınan 57 *V. dahliae* pamuk izolatı'nın 26'sı VCG1, 25'i VCG2A ve 5'i VCG4B olarak değerlendirilmiştir. Bir izolatta kendine uyumsuz olarak bulunmuştur. İsrail'den alınan 178 *V. dahliae* pamuk izolatının 114'ü VCG2B, 63'ü VCG4B ve 1'i VCG2A olarak dağılmıştır (Korolev et al. 2000a). Yunanistan, İsrail ve İspanya'dan elde edilen pamuk izolatları ile yapılan çalışmalar, Yunanistan ve İsrail'deki *V. dahliae* pamuk izolatlarında VCG2B'nin yaygın olduğunu, İspanya'da VCG1'in görüldüğü ve VCG2B'nin görülmediğini göstermektedir. Bu sonuçlar çerçevesinde, bulgularımız Yunanistan ve İsrail'de elde edilen sonuçlara benzerlik göstermiştir.

Çalışmamızda, *V. dahliae* izolatlarının pamuk bitkisindeki yüzde hastalık şiddeti ve yüzde yaprak dökümü değerleriyle elde edilen VCG sonuçları arasında ilişki olup olmadığı incelendiğinde, VCG2B ve VCG1 içerisinde hem yüzde hastalık şiddeti hem de yüzde yaprak dökümü düşük ve yüksek izolatların (Çizelge 1,2) yer aldığı görülmektedir. Korolev et al. (2000a, b), VCG2B'deki tüm pamuk izolatlarının şiddetli yaprak belirtileri, cüceleşme ve çoğu zaman ölüme neden olduğunu ancak izolatlar pamuk bitkilerine inokule edildiklerinde yaprak dökülmesine neden olmadıklarını veya az yaprak dökümü olduğunu belirtmiş ve bunları pamukta "yaprak dökken benzeri" patotip olarak tanımlanmıştır.

Bu çalışma ile Aydın İli'nde pamuğu hastalandıran *V. dahliae* popülasyonunun çoğunluğunun VCG2B olduğu, VCG2A ve VCG1'in ise sınırlı olduğu görülmektedir. Çalışmamızda pamuk ekim alanlarından elde edilen 47 *V. dahliae* izolatının yarısının virülensinin yüksek ve genellikle virülensi yüksek izolatların yaprak dökürme yüzdelerinin de fazla olduğu belirlenmiştir. Ancak bu izolatların T-1 (yaprak döküren) veya SS-4 (yaprak dökürmeyen) patotipi olup olmadığı bilinmemektedir. Patotiplerin belirlenmesi için daha detaylı çalışmalara gereksinim vardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, TÜBİTAK (TOVAG-104O181 no'lu proje) ve Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri (ZRF-05006 no'lu proje) tarafından desteklenmiştir. Çalışmanın gerçekleşmesindeki katkılarından dolayı her iki kuruma teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Al-Ahmad M.A. and Moshl M.N. 1993. Verticillium Wilt of Olive in Syria.EPPO Bulletin 23, 521-529.
- Anonim 2006. Tariş AR-GE, Pamuk Raporu.
- Derviş S. ve Biçici M. 2003. Pamuk Alanlarındaki *Verticillium dahliae* Kleb'nin Yoğunluğu, Solgunluk Çıkışı ve Etmen İzolatlarının Konukçuya Özelleşmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi. 2003, Adana, 135s.
- Derviş S. and Biçici M. 2005. Vegetative Compatibility Groups in *Verticillium dahliae* isolates from cotton in Turkey. Phytoparasitica 33: 157-168.
- Elena K. 2000. Genetic Relatedness of *Verticillium dahliae* isolates from cotton, tomato and watermelon plants. (Ed: E.J. Tyjamos, R.C.Rowe, J.B.Heale and D.R.Fravel) Advances in Verticillium Research and Disease management. APS Pres, St. Paul, Mn., p.106-108.
- Esentepe M. 1979. Adana ve Antalya illerinde pamuklarda görülen solgunluk hastalığının etmeni, yayılışı, kesafeti ve zarar derecesi ile ekolojisi üzerinde araştırmalar, Bornova Bölge Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Araştırma Eserleri Serisi No:32., Bornova/İzmir. 47s.
- Göre M.E. 2007. Vegetative Compatibility and Pathogenicity of *Verticillium dahliae* isolates from the Aegean Region of Turkey. Phytoparasitica 35 (3): 222-231.
- Hanson L. E. 2000. Reduction of Verticillium Wilt Symptoms in Cotton Following Seed Treatment with *Trichoderma virens*, The Journal of Cotton Science 4:224-231.
- Karaca İ., Karcıoğlu A. and Ceylan S. 1971. Wilt disease of cotton in the Ege region of Turkey. The journal Turkish Phytopathology, İzmir. 1 (1):4-11.
- Korolev N., Jimenez-Diaz R. M., Katan J., Perez-Artes E., Garcia-Pedrajas M., Bejarano-Alcazar J., Rodriguez-Jurado D. and Katan T. 2000a. (E. J. TJAMOS, R. C. ROWE, J. B. HEALE, and D. R. FRAVEL eds.) Advances in Verticillium Research and Disease Management. APS Pres, St. Paul, Mn., p.109-111.
- Korolev N., Katan J. and Katan T. 2000b. Vegetative compatibility groups of *Verticillium dahliae* in Israel: Their distribution and association with pathogenicity. Phytopathology, 90:529-536.
- Kurt Ş. ve Biçici M. 1997. Adana Yöresinde Pamuk Solgunluk Hastalıklarının Nedenleri, Yaygınlıkları Ve Oluşumları İle Bölge Çeşitlerinin Bunlara Karşı Tepkileri, (Doktora Tezi) Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 128 sayfa.

- Melouk, H.A. 1992. *Verticillium*, 175-178 In: Singleton, L. L., Mihail J. D and Rush C.M. (eds.). *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*. APS Pres. St. Paul, Minnesota).
- Onan E. and Karcılođlu A. 1998. Pathotypes of *Verticillium dahliae* from cotton in Aegean region and Review of *Verticillium* Wilt tolerance in Nazilli 84 cotton. *Journal of Turkish Phytopathology*, 27: 113-120.
- Sağır A. ve Tatlı F. 1995. Pamuk Solgunluk Hastalığı Etmeni (*Verticillium dahliae* Kleb)'ne Karşı Pamuk Çeşitlerinin Duyarlılıklarının Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar, VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri. 26-29 Eylül 1995, Adana, 5-9.
- Tsrör (Lahkım) L . and Levin A. G. 2003. Vegetative compatibility and pathogenicity of *Verticillium dahliae* Kleb. Isolates from olive in Israel. *J. Phytopathology* 151, 451-455.